

Wykaz skrótów do rozdziału 7

ACP – białko przenoszące acyl (ang. *acyl carrier protein*)
ADP – adenozyndifosforan
ATP – adenozynotrifosforan
CoA (CoA-SH) – koenzym A, forma zredukowana
CoASCOR – acylo-CoA
CoASSCoA – koenzym A, forma utleniona
CoASSG – mieszany disiarczek koenzymu A i glutationu
DNA – kwas deoksyrybonukleinowy
DTP – pirofosforan tiaminy (difosfotiamina)
 E_0 – standardowy biologiczny potencjał oksydacyjno-redukcyjny
FAD – dinukleotyd flawinoadeninowy, forma utleniona
FADH₂ – dinukleotyd flawinoadeninowy; forma zredukowana
GDP – guanozyndifosforan
GSH – zredukowany glutation
GSSG – utleniony glutation
GTP – guanozynotrifosforan
HDL – lipoproteina(y) o dużej gęstości
HMG-CoA (HMG) – 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA
LDL – lipoproteina(y) o małej gęstości
MAO-B – monoaminooksydaza, typ B
mRNA – informacyjny RNA
mtDNA – mitochondrialny kwas deoksyrybonukleinowy
NAD⁺ (NAD) – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy; forma utleniona
NADH – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy; forma zredukowana
NADP⁺ (NADP) – fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego; forma utleniona
NADPH – fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego, forma zredukowana
PAPS – 3'-fosfoadenozyno-5'-fosfosiarczan
RNA – kwas rybonukleinowy
SAM – S-adenozylometionina
TG – triacyloglicerol(e)
tRNA – transportujący (transferowy) RNA
UDPGA – kwas difosfourdynoglukuronowy
 $\Delta G^{0'}$ – standardowa biologiczna entalpia swobodna

7. KOENZYM A

Udział w metabolizmie oraz możliwości farmakologicznego działania

Anna Bilska

7.1. Wprowadzenie

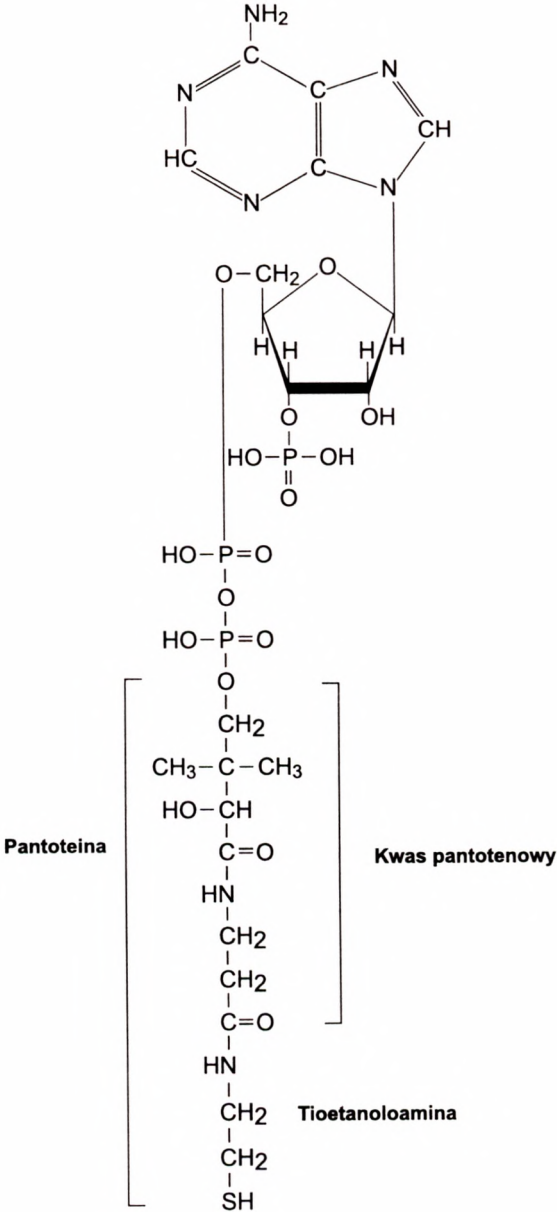
Aktywnym składnikiem koenzymu A jest pantoteina utworzona z kwasu pantotenowego (wit. B₅) i tioetanolaminy. Drugim składnikiem koenzymu A jest 3'-fosfoadenozyno-5'-difosforan utworzony z ATP. Koenzym A (ryc. 1) pełni funkcję uniwersalnego przenośnika grup acylowych, z których najczęstsza jest grupa acetylowa. Acetylo-CoA jako cząsteczka bezpośrednio zaangażowana w proces tworzenia energii jest ogniwem łączącym wszystkie niemal drogi metaboliczne cukrów, tłuszczów, białek i aminokwasów.

W acetylową grupę acetylo-CoA jest przekształcana w organizmie większość składników pokarmowych (cukry, tłuszcze, białka). Cukry osiągają formę acetylo-CoA po oksydacyjnej dekarboksylacji, powstającego podczas glikolizy, pirogronianu; tłuszcze w procesie β -oksydacji, natomiast białka po hydrolizie, dezaminacji aminokwasów i przemianach ich szkieletów węglowych. Cząsteczka acetylo-CoA wprowadza do cyklu Krebsa grupy acetylowe, które są tu utleniane do CO₂. Każda utleniona grupa acetylowa dostarcza 4 par elektronów, przenoszonych na NAD⁺ i FAD. Podczas przepływu tych elektronów z NADH i FADH₂ na tlen cząsteczkowy uwalnia się energia, która zostaje wykorzystana do syntezy ATP. Opisany tu proces stanowi główne źródło energii dla organizmów cudzożywnych.

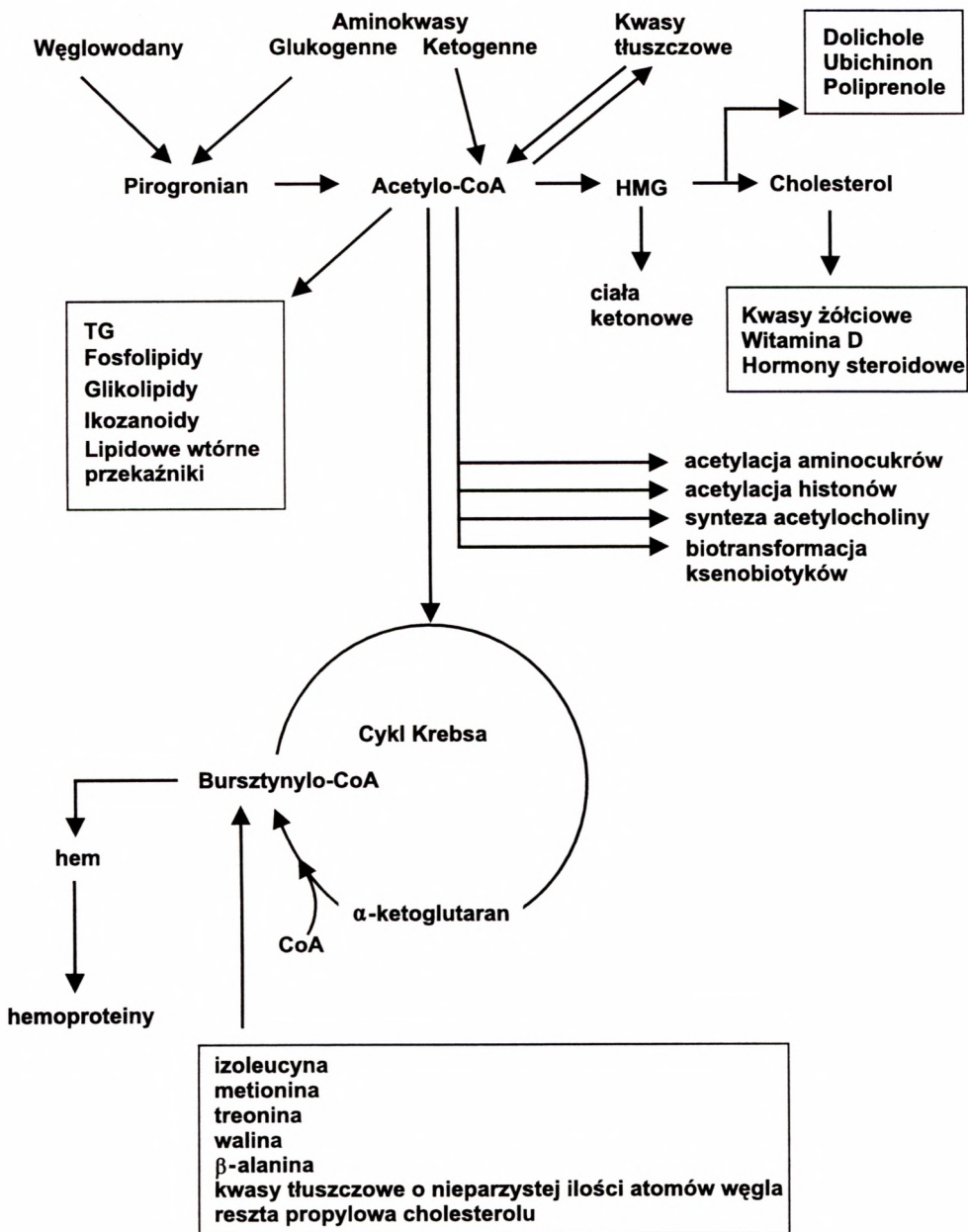
Acetylo-CoA jest również źródłem jednostek acetylowych wykorzystywanych w procesach biosyntezy kwasów tłuszczowych, cholesterolu i jego pochodnych oraz ciał ketonowych. Obecność acetylo-CoA jest także niezbędna do acetylacji cholin w tworzeniu neuroprzekaźnika acetylocholin, białek histonowych, ksenobiotyków oraz w procesie biosyntezy melatoniny.

Z udziałem koenzymu A i jego acylowych pochodnych powstają również hormony, wewnątrz- i międzykomórkowe przekaźniki informacji, hem oraz izoprenoidy. Wśród tych ostatnich znajdują się między innymi związki wykorzystywane do modyfikacji kowalencyjnej białek cytozolowych i kwasów nukleinowych.

Podaje się, iż koenzym A jako uniwersalny przenośnik grup acylowych uczestniczy bezpośrednio w około 100 reakcjach enzymatycznych, leżących głównie na skrzyżowaniu różnych szlaków anabolicznych i katabolicznych tłuszczów, cukrów, aminokwasów i nukleotydów [1]. Poniższa rycina przedstawia kluczową rolę koenzymu A w przemianach metabolicznych komórki.



Ryc. 1. Struktura koenzymu A



Ryc. 2. Kluczowa rola koenzymu A w przemianach metabolicznych

Podstawową funkcją koenzymu A we wszystkich wyżej wymienionych procesach metabolicznych jest przenoszenie grup acylowych. Tioestrowe wiązanie między grupą tiolową koenzymu A i grupą karboksylową kwasu jest wiązaniem makroergicznym. Wartość standardowej biologicznej entalpii swobodnej ΔG^0 reakcji hydrolizy acylo-CoA wynosi: $-31,4 \text{ kJ/mol}$ i jest porównywalna z wartością ΔG^0 hydrolizy ATP. Dlatego wysokoenergetyczne tioestry koenzymu A są ogniwem pośredniczącym w wymianie energii ze związkami o wysokim potencjale przenoszenia grup fosforanowych.

Oprócz funkcji przenośnika grup acylowych koenzym A i jego pochodne mogą także pełnić bezpośrednią rolę modulatora i regulatora wielu procesów biochemicznych o podstawowym znaczeniu dla utrzymania homeostazy organizmu. Wymienia się tu m.in. reakcje S-nitrozylacji grupy tiolowej koenzymu A, co sugeruje jego udział w procesach przekazywania informacji [2]. Ze względu na obecność grupy tiolowej ($-\text{SH}$) koenzymowi A przypisuje się również udział w procesach unieczynniania reaktywnych form tlenu [3]. Wartość biologicznego standardowego potencjału oksydacyjno-redukcyjnego układu acetylo-CoA/aldehyd octowy + CoA wynosi $-0,41 \text{ V}$, co istotnie wskazuje na silne właściwości antyoksydacyjne koenzymu A.

7.2. Historia odkrycia i poznania struktury koenzymu A

Za odkrycie koenzymu A i wyjaśnienie jego roli w pośredniej przemianie materii Fritz Albert Lipmann, profesor Harvard Medical School, otrzymał w 1953 roku Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii (*for his discovery of coenzyme A [an important catalytic substance in the cellular conversion of food into energy] and its importance for intermediary metabolism*).

Prowadzone w latach czterdziestych ubiegłego wieku badania biochemików wykazywały, że synteza kwasu octowego w organizmie człowieka wynosi 600–700 g dziennie. Tymczasem, pomimo dokładnych i drobiazgowych poszukiwań nie udawało się udowodnić nawet śladu istnienia tego związku w ustroju ludzkim. Przyjęto wówczas, iż powstający w komórkach kwas octowy musi występować w postaci związanej, którą nazwano „aktywnym kwasem octowym”. Dociekania nad strukturą „aktywnego octanu” sugerowały początkowo, iż może być on acetylofosforanem [4].

W 1947 roku Lipmann zaobserwował, że wyciągi z wątroby gołębi po dializie traciły zdolność acetylowania sulfanilamidu, którą odzyskiwały po podaniu zagotowanego, niedializowanego wyciągu z wątroby. Wywnioskował więc, iż gotowany wyciąg musi zawierać koenzym. Nazwał go **koenzymem A** (koenzymem acetylacji), a następnie wykazał jego obecność w organizmach żywych [5–7].

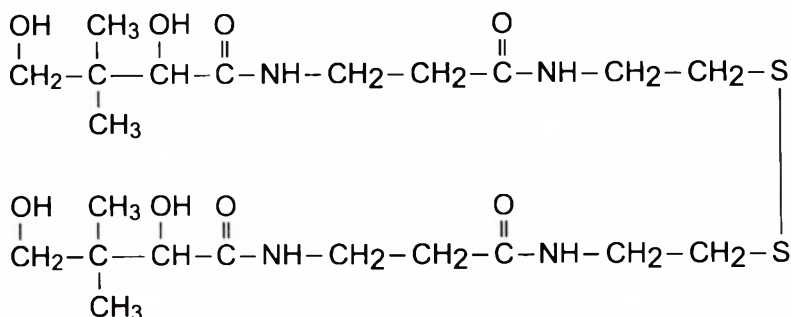
Całkowitej syntezy chemicznej koenzymu A dokonali w kilka lat później Khorana, Michelson i Lynen [6].

7.3. Kwas pantotenowy i biosynteza koenzymu A

Kwas pantotenowy (ryc. 1) jest dipeptydem złożonym z kwasu 2,4-dihydroksy-3,3-dimetylomasłowego i β -alaniny [D-N-(α,γ -dihydroksy- β,β -dimetylobutyrylo)- β' -ala-

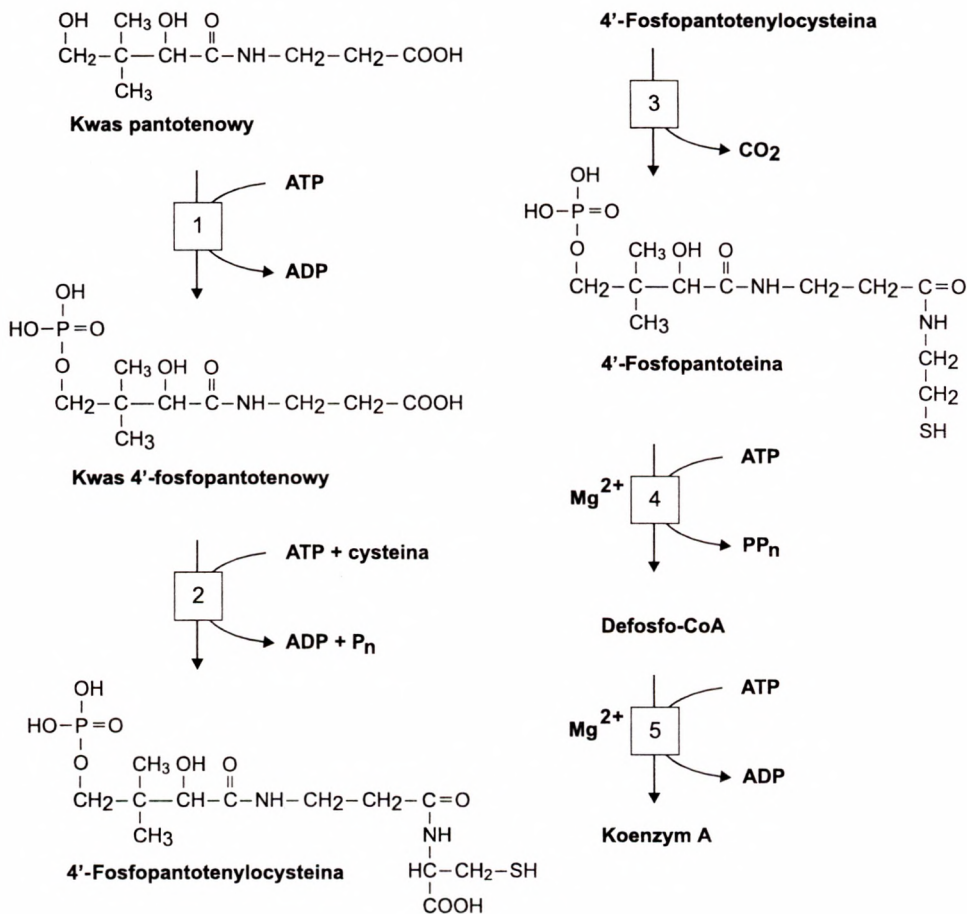
nina)]. Biologicznie aktywny jest izomer prawoskrętny. Kwas pantotenowy po raz pierwszy został wyizolowany w 1933 roku z tkanki wątrobowej. Dalsze badania udowodniły, iż związek ten jest witaminą (wit. B₅) dla zwierząt i człowieka. Kaplan i Lipmann wykazali, iż prawie cała ilość kwasu pantotenowego występuje w organizmie w postaci koenzymu A [4]. Prowadzone w latach siedemdziesiątych dwudziestego wieku badania wyjaśniły, iż kwas pantotenowy jest również składnikiem białka ACP (*acyl carrier protein*), wchodzącego w skład wieloenzymatycznego kompleksu syntazy kwasów tłuszczowych [8].

Kwas pantotenowy nie jest jedyną formą witaminy B₅. Wśród innych postaci chemicznych wymienić należy pantoteinę [N-(pantotenilo)-β-aminoetanotiol] i jej formę disiarczkową – pantotinę (ryc. 1 i ryc. 3).



Ryc. 3. Struktura pantotiny – disiarczkowej formy pantoteiny

Unikalna funkcja koenzymu A i znaczenie białka ACP w przemianach biochemicznych tłumaczą rolę kwasu pantotenowego (i jego pochodnych) jako niezbędnej dla człowieka witaminy. Dzielne zapotrzebowanie na kwas pantotenowy wynosi 8–10 mg i jest w całości pokrywane przez standardową dietę. Dlatego awitaminoza B₅ u ludzi i zwierząt należy do rzadkości. Interesujących wyników dostarczyły badania przeprowadzone przez Moiseenoka i współpracowników [9]. U zwierząt doświadczalnych po zastosowaniu diety pozbawionej kwasu pantotenowego zaobserwowano obniżenie poziomu koenzymu A, defosfokoenzymu A i 4'-fosfopantoteiny w komórkach wątroby, natomiast stosunek stężeń zredukowanej formy koenzymu A (CoA-SH) do sumy stężeń wszystkich form koenzymu A, jak i stężeń CoA-pochodnych długołańcuchowych kwasów tłuszczowych do sumy stężeń wszystkich form koenzymu A nie ulegał zmianie. Autorzy sugerują, iż ten relatywnie stabilny poziom całkowitej puli koenzymu A w komórkach wątroby zwierząt doświadczalnych wynika z faktu, iż fosfopantoteina związana z białkiem ACP, składnikiem cytoplazmatycznego kompleksu syntazy kwasów tłuszczowych, może stanowić źródło kwasu pantotenowego dla enzymów przeprowadzających syntezę koenzymu A.



- 1 kinaza pantotenianu EC 2.7.1.33
- 2 ligaza fosfopantotenyllocysteiny EC 6.3.2.5
- 3 dekarboksylaza fosfopantotenyllocysteiny EC 4.1.1.36
- 4 adenylotransferaza fosfopantoteiny EC 2.7.7.3
- 5 kinaza defosfokoenzymu A EC 2.7.1.24

Ryc. 4. Biosynteza koenzymu A

Biosyntezę koenzymu A z kwasu pantotenowego, ATP i cysteiny przedstawiono na ryc. 4. Fosforylacja kwasu pantotenowego do kwasu 4'-fosfopantotenowego przy udziale kinazy pantotenianu odbywa się w cytoplazmie. Etap ten jest najważniejszym miejscem regulacji całego procesu, ponieważ aktywność kinazy kwasu pantotenowego jest hamowana przez koenzym A na zasadzie sprzężenia zwrotnego ujemnego. Substratem dla kinazy pantotenianu są również pozostałe formy witaminy B₅ (pantoteina i pantotina). Następne etapy syntezy koenzymu A zachodzą w mitochondriach. Ligaza fosfopantotenylcysteiny katalizuje reakcję pomiędzy kwasem 4'-fosfopantotenowym i cysteiną z utworzeniem 4'-fosfopantotenylcysteiny. Ta ostatnia ulega dekarboksylacji do 4'-fosfopantoteiny. W kolejnej reakcji katalizowanej przez adenylotransferazę fosfopantoteiny powstaje defosfokoenzym A. W ostatniej reakcji przy udziale kinazy defosfokoenzymu A zostaje wprowadzona grupa fosforanowa na miejsce grupy 3'-hydroksylowej we fragmencie adenozynowym defosfokoenzymu A i powstaje cząsteczka koenzymu A. Istnieje przypuszczenie, że mitochondrialne enzymy katalizujące w mitochondriach syntezę koenzymu A z 4'-fosfopantotenianu są zlokalizowane w błonie zewnętrznej lub po zewnętrznej stronie błony wewnętrznej [10].

Hamujący wpływ koenzymu A na aktywność kinazy pantotenianu – enzymu katalizującego fosforylację kwasu pantotenowego oraz pantoteiny i pantotiny do 4'-fosfopantotenianu jest czynnikiem ograniczającym wydajność procesu enzymatycznej biosyntezy koenzymu A w warunkach *in vitro*. Shimizu i współpracownicy [11] opracowali metodę, w której reakcję katalizowaną przez kinazę pantotenianu zastąpiono syntezą chemiczną. Wydajność molowa całego procesu wyniosła odpowiednio 86% i 100% w przypadku użycia kwasu fosfopantotenowego i fosfopantoteiny jako substratów do enzymatycznej syntezy koenzymu A.

7.4. Udział koenzymu A w metabolizmie

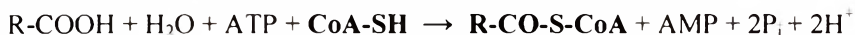
7.4.1. Udział koenzymu A w metabolizmie lipidów

Do najważniejszych lipidów w organizmie człowieka należą: triacyloglicerole, fosfolipidy, glikolipidy i steroidy. Produktami ich metabolizmu są kwasy tłuszczowe, glicerol i ciała ketonowe.

7.4.1.1. Rola koenzymu A w metabolizmie kwasów tłuszczowych

7.4.1.1.1. Utlenianie kwasów tłuszczowych

Proces utleniania kwasów tłuszczowych odbywa się w mitochondriach. Przed wnikiem do *matrix* mitochondrialnej kwasy tłuszczowe ulegają aktywacji, tzn. wiążą się z koenzymem A wiązaniem tioestrowym. Reakcja ta zachodzi w cytoplazmie przy udziale swoistych syntetaz acylo-CoA, wykorzystując ATP jako źródło energii.



Formą, w której aktywne kwasy tłuszczowe mogą być transportowane do mitochondrium są ich estry z karnityną. W reakcji acylo-CoA z karnityną powstaje acylo-karnityna, dla której błona mitochondrialna nie stanowi przeszkody.



Po matriksowej stronie błony grupa acylowa jest ponownie przenoszona na CoA (powstające wiązanie O-acylowe w cząsteczce acylokarnityny jest wiązaniem makroergicznym). Reakcje transacylacji katalizowane są przez acylotransferazy karnitynowe.

Kluczową rolę w regulacji utleniania kwasów tłuszczowych pełni, zlokalizowana w zewnętrznej błonie mitochondrialnej, palmitoilotransferaza karnitynowa. Inhibitorem tego enzymu jest cząsteczka malonylo-CoA [12]. Stężenie malonylo-CoA w mitochondriach komórek wątroby zwiększa się między innymi pod wpływem insuliny i glukozy [13]. Konsekwencją hamowania aktywności palmitoilotransferazy karnitynowej I przez malonylo-CoA jest spadek szybkości utleniania kwasów tłuszczowych oraz ograniczenie biosyntezy ciał ketonowych. Tak więc, znany od dawna wpływ insuliny i glukozy na metabolizm kwasów tłuszczowych można również wyjaśnić rolą tych związków w regulacji stężenia malonylo-CoA.

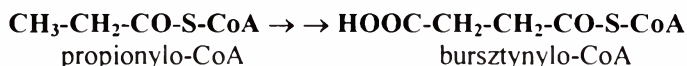
Pojedynczy cykl utleniania nasyconego kwasu tłuszczowego składa się z czterech reakcji katalizowanych kolejno przez dehydrogenazę acylo-CoA, hydratazę enoilo-CoA, dehydrogenazę L-3-hydroksyacylo-CoA oraz acylotransferazę acetylo-CoA. Każdy obrót cyklu utleniania kwasu tłuszczowego kończy się tiolitycznym rozszczepieniem 3-ketoacylo-CoA – z udziałem grupy tiolowej kolejnej cząsteczki CoA – z powstaniem acetylo-CoA i acylo-CoA uboższego o dwa atomy węgla od wyjściowego acylo-CoA.

Reakcja sumaryczna utlenienia kwasu tłuszczowego o parzystej ilości atomów węgla n jest następująca:



W procesie utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych biorą udział dwa dodatkowe enzymy: reduktaza 2,4-dienoilo-CoA i izomeraza *cis*- Δ^3 -enoilowa.

Podczas utleniania kwasów tłuszczowych o nieparzystej liczbie atomów węgla w ostatniej reakcji tiolizy z udziałem koenzymu A – ostatniego cyklu β -oksydacji powstaje jedna cząsteczka acetylo-CoA oraz jedna cząsteczka propionylo-CoA. Ten ostatni ulega następnie przemianom w bursztynylo-CoA i w tej formie wchodzi do cyklu Krebsa.



Przejście propionylo-CoA w bursztynylo-CoA zachodzi przy udziale dwóch enzymów: karboksylazy propionylo-CoA (koenzym: biotyna) i mutazy metylomalonylo-CoA (koenzym: witamina B₁₂). Przemianom do propionylo-CoA ulegają również niektóre aminokwasy i nukleotydy.

7.4.1.1.2. Biosynteza kwasów tłuszczowych

Źródłem fragmentu dwuwęglowego do syntezy kwasów tłuszczowych w cytoplazmie jest acetylo-CoA powstający głównie w mitochondrialnym procesie oksydacyjnej dekarboksylacji pirogronianu (rozdział 6):



Przenośnikiem reszty acetylowej z mitochondriów do cytoplazmy jest cytrynian, powstający w reakcji katalizowanej przez syntazę cytrynianową. Reakcja ta prowadzi jednocześnie do uwalniania się koenzymu A



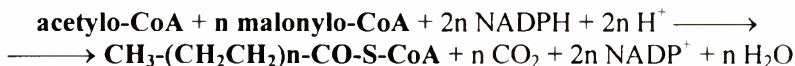
W pierwszym etapie procesu syntezy kwasów tłuszczowych powstaje malonylo-CoA w reakcji karboksylacji acetylo-CoA katalizowanej przez karboksylazę acetylo-CoA, która zawiera biotynę jako grupę prostetyczną.



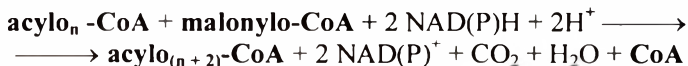
Enzym katalizujący tę reakcję – karboksylaza acetylo-CoA – pełni kluczową rolę w kontroli metabolizmu kwasów tłuszczowych. Jednym z jej inhibitorów jest palmitoilo-CoA. Stała inhibicji palmitoilo-CoA dla karboksylazy acetylo-CoA przyjmuje wartość rzędu 10^{-6} mol/l.

Następne etapy biosyntezy łańcucha kwasu tłuszczowego odbywają się przy udziale kompleksu wieloenzymatycznego syntazy kwasów tłuszczowych, zlokalizowanego w cytoplazmie. Syntaza kwasów tłuszczowych jest dimerem zbudowanym z dwóch jednakowych podjednostek o masie 260 kDa każda. W obrębie pojedynczego łańcucha polipeptydowego znajduje się 7 różnych miejsc katalitycznych. Pozycję centralną układu zajmuje białko (77 aminokwasów) przenoszące grupę acylową (ACP – *acyl carrier protein*). Reaktywnym składnikiem białka ACP (podobnie jak koenzymu A) jest 4-fosfopantoteina połączona wiązaniem fosfodiestrowym z resztą seryny łańcucha polipeptydowego (nierzadko w stosunku do ACP używa się z tego powodu nazwy „makrokoenzym A”).

Reakcję syntezy nasyconego kwasu tłuszczowego o długości n atomów węgla (głównym produktem działania syntazy kwasów tłuszczowych jest palmitynian) można zapisać następująco:

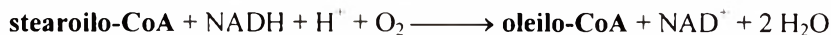


Powstający działaniem syntazy kwasów tłuszczowych palmitynian ulega elongacji w reakcjach katalizowanych przez enzymy zlokalizowane na powierzchni błon retikulum endoplazmatycznego. W procesie elongacji acylo-CoA donorem jednostek dwuwęglowych jest malonylo-CoA.



W układach mikrosomowych zachodzi przemiana nasyconych kwasów tłuszczowych w nienasycone, polegająca na wprowadzeniu wiązania podwójnego *cis*- Δ^9 . Re-

akcje te katalizowane są przez kompleks enzymatyczny składający się z reduktazy cytochromu b_5 zależnej od NADH, cytochromu b_5 i desaturazy.



Oprócz kwasu stearynowego substratem do syntezy kwasów nienasyconych są także: kwas palmitooleinowy, oleinowy, linolowy i linolenowy. Kwas linolowy i linolenowy należą do egzogennych kwasów tłuszczowych.

7.4.1.1.3. Rola kwasów tłuszczowych

Kwasy tłuszczowe są materiałem energetycznym. Oprócz tego stanowią materiał budulcowy fosfolipidów i glikolipidów, a także pełnią funkcje hormonów i cząsteczek sygnałowych. Głównym prekursorem dużej grupy cząsteczek określanych wspólną nazwą hormonów ikozanoidowych jest – pochodny kwasu linolowego – arachidonian [14,15].

Niektóre kwasy tłuszczowe są również wykorzystywane w reakcjach acylacji rozpuszczalnych białek cytozolowych. Reszta acylowa stanowi dla takiego białka rodzaj kotwicy pozwalającej na wiązanie się z błoną komórkową. Źródłem reszt kwasowych w tego typu reakcjach modyfikacji białek są palmitoilo-CoA i mirystoilo-CoA. Grupa mirystoilowa reaguje z grupą aminową N-końcowej glicyny, natomiast reszta kwasu palmitynowego wchodzi w reakcję z grupami tiolowymi reszt cysteiny w środkowym odcinku polipeptydu. Do białek ulegających palmitylacji należy między innymi rodopsyna, białka Ras i galaktozylotransferaza, natomiast mirystylacji ulega podjednostka γ białek G, kinazy białkowe zależne od cAMP i fosfataza alkaliczna. Niewykluczone, iż wyniki badań nad procesem acylacji niektórych białek uda się wykorzystać w diagnostyce i terapii chorób nowotworowych. Zaobserwowano bowiem, iż zmutowane białko *src* (cytozolowa kinaza tyrozynowa) traci cechy onkogenne, jeżeli zahamowany zostanie proces mirystylacji tego białka [16].

7.4.1.2. Udział koenzymu A i jego pochodnych w metabolizmie glicerolipidów, sfingolipidów oraz ciał ketonowych

Wśród glicerolipidów występujących w tkankach zwierzęcych wymienić należy triacyloglicerole (TG) oraz większość fosfolipidów: fosfatydylocholinę, fosfatydyloetanolinę, fosfatydyloserynę, fosfatydyloinozytol oraz kardiolipiny.

Kwasy tłuszczowe przed włączeniem do szkieletu glicerydowego muszą ulec aktywacji do acylo-CoA. Związkiem pośrednim w procesie syntezy zarówno triacylogliceroli, jak i wspomnianych fosfolipidów jest kwas fosfatydowy.

Do syntezy sfingolipidów, wśród których wyróżniamy sfingomieliny oraz glikolipidy (cerebrozydy i gangliozydy), niezbędna jest obecność sfingozyny, która powstaje z palmitoilo-CoA i seryny.

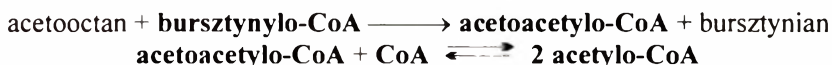


Związkiem pośrednim w procesie biosyntezy sfingolipidów jest ceramid, powstający w reakcji acylacji grupy aminowej sfingozyny przez acylo-CoA. Obecności acetylo-

-CoA wymaga także proces biosyntezy – występujących w gangliozydach – kwasów sialowych i N-acetylowych pochodnych cukrów.

Koenzym A bierze również udział w syntezie i biodegradacji ciał ketonowych, do których zalicza się: kwas acetooctowy i D-3-hydroksymasłowy oraz aceton. Początkowo przypuszczano, że ciała ketonowe są jedynie pośrednimi metabolitami procesu β -oksydacji kwasów tłuszczowych. Późniejsze badania wykazały jednak, iż 3-hydroksybutyrylo-CoA, który powstaje w tym procesie, posiada konfigurację L, podczas gdy 3-hydroksybutyrylo-CoA, który jest wykrywany we krwi, ma konfigurację D. To spostrzeżenie nasunęło wniosek o istnieniu odrębnej drogi biosyntezy ciał ketonowych. Prekursorem ciał ketonowych okazał się acetylo-CoA, a głównym metabolitem pośrednim β -hydroksy- β -metyloglutarylo-CoA.

Wykorzystanie ciał ketonowych jako materiału energetycznego wymaga udziału dwóch enzymów: specyficznej transferazy koenzymu A i tiolazy acetoacetylo-CoA katalizujących następujące reakcje w mitochondriach komórek pozawątrobowych:



Aktywności tych enzymów są szczególnie wysokie w mitochondriach mózgu, serca i nerki, nie występują natomiast w wątrobie.

7.4.2. Udział koenzymu A w metabolizmie aminokwasów i nukleotydów. Cykl mocznikowy. Powiązanie z cyklem Krebsa

Koenzym A uczestniczy w przemianach szkieletu węglowego większości aminokwasów. Alanina, cysteina, glicyna, seryna, treonina oraz częściowo tryptofan metabolizowane są do pirogronianu, a następnie jako acetylo-CoA wchodzi do cyklu Krebsa. Utlenianie pirogronianu przebiega przy udziale wieloenzymatycznego układu dehydrogenazy pirogronianowej (rozdział 6). Wśród koenzymów uczestniczących w procesie dekarboksylacji oksydatywnej pirogronianu – obok pirofosforanu tiaminy (DTP), nukleotydu nikotynamidoadeninowego (NAD), dinukleotydu flawinoadeninowego (FAD) oraz kwasu liponowego – znajduje się również koenzym A. Szybkość utleniania pirogronianu zależy nie tylko od stosunku stężeń NADH/NAD, lecz również od stosunku stężeń acetylo-CoA/CoA. Zwiększony poziom zarówno NADH, jak i acetylo-CoA w mitochondriach jest czynnikiem zmniejszającym aktywność dehydrogenazy pirogronianowej. Acetylo-CoA jest natomiast aktywatorem karboksylazy pirogronianowej, kierującej pirogronian na drogę glukoneogenezy.

Koenzym A może również bezpośrednio uczestniczyć w rozkładzie szkieletów węglowych leucyny, izoleucyny i waliny jako składnik mitochondrialnego kompleksu dehydrogenazy α -ketokwasów o łańcuchach rozgałęzionych BCKAD (*branched chain α -keto acids dehydrogenase*; rozdział 6). Końcowym produktem degradacji leucyny jest acetylo-CoA, natomiast izoleucyny i waliny – bursztynylo-CoA. Bursztynylo-CoA jest także miejscem wejścia do cyklu Krebsa atomów węgla pochodzących z rozkładu treoniny i metioniny.

Biodegradacja pozostałych aminokwasów również jest zależna od obecności koenzymu A: część atomów węgla tryptofanu pojawia się w cząsteczce acetylo-CoA, nato-

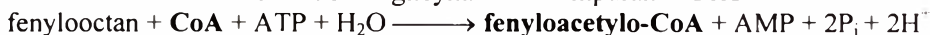
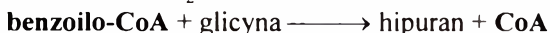
miast wszystkie atomy węgla lizyny i część atomów węgla fenyloalaniny i tyrozyny znajdujemy w cząsteczce acetoacetylo-CoA.

Glutaminian, glutamina, seryna i treonina są głównym źródłem amoniaku dla syntetazy karbamoilofosforanowej. Ten kluczowy enzym cyklu mocznikowego jest aktywny tylko w obecności N-acetyloglutaminianu. Ten ostatni powstaje przy udziale acetylo-CoA w reakcji katalizowanej przez syntetazę N-acetyloglutaminianową:



Rolą cyklu mocznikowego jest nie tylko usuwanie azotu, lecz również produkcja argininy koniecznej do syntezy białek, fosforanu kreatyny w mięśniach oraz tlenu azotu NO.

W przypadku niedoboru aktywności syntetazy karbamoilofosforanowej można stosować leczenie, polegające na podawaniu benzoesanu i fenylooctanu. Powstające w tych reakcjach związki: hipuran i fenyloacetyloglutamina zastępują mocznik w usuwaniu azotu z organizmu. Reakcje te również wymagają obecności koenzymu A:



Koenzym A bierze również udział w degradacji zasad pirymidynowych (cytozyny, uracylu i tyminy), ponieważ powstająca w tym procesie β -alanina i kwas β -aminoizomasłowy ulegają przemianie do metylomalonylo-CoA, a następnie do bursztynylo-CoA.

7.4.3. Udział koenzymu A w metabolizmie węglowodanów

Koenzym A bierze udział w dekarboksylacji oksydacyjnej pirogronianu, której produktem jest acetylo-CoA. Reakcja ta kieruje atomy węgla glukozy na dwie różne drogi metaboliczne: do cyklu Krebsa, w którym utleniają się one do CO_2 z jednoczesnym generowaniem energii oraz na szlak syntezy lipidów. Procesy te omówiono w poprzednich rozdziałach. Acetylo-CoA uczestniczy również w procesach acetylacji aminocukrów z utworzeniem głównie N-acetyloglukozaminy, N-acetylomannozaminy i kwasu N-acetyloneuraminowego. Pochodne te wykorzystywane są do syntezy glikozaminoglikanów, glikolipidów i glikoprotein. Do syntezy tych ostatnich niezbędna jest obecność – pełniącego rolę nośnika cukru – dolicholu, który również powstaje z cząsteczek acetylo-CoA.

7.4.4. Udział koenzymu A w metabolizmie substancji niepolarnych

Różnorodność związków niepolarnych, jakie mogą znaleźć się w ustroju jest bardzo duża. Mimo to ilość mechanizmów wykorzystywanych przez ustrój do ich biotransformacji jest stosunkowo niewielka. Sprowadzają się one głównie do reakcji hydrosylacji. Układy enzymatyczne katalizujące te reakcje zlokalizowane są w mikrosomach wątroby. Głównymi składnikami tych układów są hemoproteiny: cytochrom P_{450} oraz enzym reduktaza cytochromu c współdziałająca z $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Zawartość

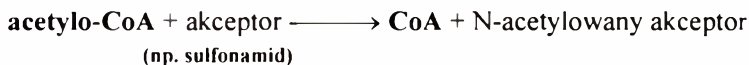
cytochromu P₄₅₀ stanowi około 20% zawartości wszystkich białek siateczki endoplazmatycznej, a na zachodzące tu oksydacyjne przemiany substancji niepolarnych zużywane jest około 6% tlenu wykorzystywanego przez cały ustrój. Świadczy to o dużym nasileniu procesów hydroksylacji substancji niepolarnych w wątrobie. Ponadto zarówno sam cytochrom P₄₅₀, jak i reduktaza cytochromowa ulegają indukcji pod wpływem niektórych substancji niepolarnych, dzięki czemu zwiększa się wydajność metaboliczna tego systemu. Reakcje hydroksylacji odgrywają istotną rolę w syntezie cholesterolu ze skwalenu oraz w przemianach cholesterolu w hormony steroidowe i sole kwasów żółciowych.

Mają one również znaczenie w przemianach egzogennych substancji niepolarnych, tzw. ksenobiotyków. Wydalanie z ustroju substancji obcych odbywa się głównie przez nerki. Wiadomo jednak, że nerka skutecznie wydalą z ustroju tylko te związki, które dobrze rozpuszczają się w wodzie. Podstawową rolą mikrosomalnych przemian ksenobiotyków jest więc zwiększenie hydrofilności tych związków. Wynikiem przemian mikrosomalnych ksenobiotyków jest – analogicznie do przemian endogennych niepolarnych metabolitów (np. steroidy) – wprowadzenie grup polarnych w cząsteczkę hydrofobowej, lipofilnej substancji. Reakcję katalizowaną przez monooksygenazy cytochromu P₄₅₀ można przedstawić równaniem:

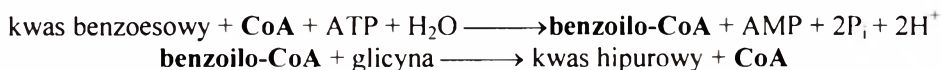


gdzie RH oznacza endo- bądź egzogenną substancję niepolarną. Reakcja ta rzadko jednak zwiększa rozpuszczalność ksenobiotyków w wodzie na tyle, by umożliwić ich skuteczne wydalanie przez nerkę. W następnym etapie biotransformacji związki te ulegają reakcjom sprzęgania z endogennymi, polarnymi metabolitami tkankowymi. Przemiany te zachodzą głównie w cytoplazmie komórek wątrobowych, a powstające połączenia są już zazwyczaj dobrze rozpuszczalne w wodzie i wydala się z moczem. Spośród związków aktywnych, biorących udział w tych przemianach wymienić należy: aktywny kwas glukuronowy (UDPGA), aktywny kwas siarkowy (PAPS), aktywną metioninę (SAM) oraz aktywny kwas octowy (acetylo-CoA).

Reakcje z udziałem acetylo-CoA polegają przede wszystkim na acetylacji grup aminowych w układach aromatycznych, zawierających dodatkowo grupę karboksylową, np. sulfonamidy, kwas p-aminobenzoowy itp. Proces ten można przedstawić równaniem:



Cząsteczka acetylo-CoA jest wykorzystywana również do aktywacji małopolarnych związków zawierających grupę karboksylową. Związki te ulegają reakcji z udziałem ATP i koenzymu A, a powstający odpowiedni acylo-CoA przekazuje resztę acylową na cząsteczkę glicyny. Przykładem jest reakcja biotransformacji kwasu benzoowego do kwasu hipurowego:



Procesy biotransformacji ksenobiotyków określa się powszechnie jako detoksykację. Jednak podstawowy sens biologiczny tych przemian polega głównie na zwiększe-

niu hydrofilności substancji, natomiast nie zawsze obserwujemy zmniejszenie toksyczności, czasami nie ulega ona zmianie, a niekiedy nawet zwiększa się [17,18].

7.4.5. Udział wybranych tioestrów koenzymu A w przemianach metabolicznych komórki

7.4.5.1. Acetylo-CoA

Jednostka acetylowa jest najczęściej przyłączaną grupą acylową do koenzymu A. Acetylo-CoA jest związkiem wspólnym dla głównych szlaków metabolicznych cukrów, tłuszczów i białek. Częsteczką acetylo-CoA jest także niezbędna w przemianach substancji niepolarnych. Szlaki te zostały omówione w poprzednich rozdziałach.

Inną rolę częsteczki acetylo-CoA jest udział w przemianach mających znaczenie dla procesów przekazywania informacji, wśród których wymienić należy (przede wszystkim) reakcje acetylacji histonów oraz biosyntezy neuroprzekaźnika – acetylocholinę.

7.4.5.1.1. Udział acetylo-CoA w reakcjach acetylacji histonów

W większości dotąd zbadanych gatunków acetylacji ulega N-końcowa seryna w histonach H1, H2A i H4. Proces ten zachodzi w cytoplazmie, prawdopodobnie jeszcze w trakcie translacji, przed transportem histonów do jądra. Ponadto we wszystkich czterech histonach rdzeniowych (H2A, H2B, H3 i H4) acetylacji ulega lizyna, tworząc ϵ -N-acetylolizynę. Źródłem reszty acetylowej jest – we wszystkich tych procesach – częsteczka acetylo-CoA.

Acetylacja jest procesem prowadzącym do zmniejszenia sumarycznego ładunku dodatniego białek histonowych, co wpływa na stopień upakowania DNA. Proces ten może być uznany za istotny element kontroli ekspresji genów, albowiem zmniejszenie sumarycznego ładunku dodatniego białek histonowych osłabia ich oddziaływanie z kwasem deoksyrybonukleinowym (DNA) i tym samym zwiększa jego dostępność dla procesów replikacji i transkrypcji [19–21].

7.4.5.1.2. Udział acetylo-CoA w syntezie acetylocholinę

Acetylocholina jest neuroprzekaźnikiem w przedzwojowych zakończeniach adrenergicznych i cholinergicznym, zakończeniach ruchowych (tzw. płytka motoryczna) oraz w ośrodkowym układzie nerwowym. Powstaje w ustroju z cholinę i acetylo-CoA w reakcji katalizowanej przez acetylotransferazę cholinową. Acetylocholina należy do grupy czynników aktywujących przemiany błonowych fosfatydyloinozytoli zarówno na obwodzie, jak i w ośrodkowym układzie nerwowym.

Inhibitory esterazy acetylocholinowej, enzymu rozkładającego acetylocholinę, znalazły zastosowanie jako leki obniżające ciśnienie śródgałkowe w przebiegu jaskry, znoszące działanie substancji zwiotczających mięśnie prądkowane oraz zmniejszające pooperacyjną atonię przewodu pokarmowego. Inhibitory esterazy acetylocholinowej stosuje się również w przebiegu choroby Alzheimera, ponieważ chorobie tej towarzyszy znaczny spadek poziomu acetylocholinę w mózgu. Uważa się również, iż esteraza

acetylcholinowa stymuluje proces amyloidogenezy. Stąd wielu autorów zwraca uwagę, iż inhibicja esterazy acetylcholinowej – powszechnie stosowana zwłaszcza w pierwszej fazie choroby Alzheimera – ma na celu zarówno podwyższenie poziomu acetylcholiny, jak również ograniczenie szybkości tworzenia amyloidowych blaszek starczych [22]. Współczesny stan neuropsychofarmakologii pozwala również przyjąć, iż upośledzenie metabolizmu acetylcholiny w mózgu może mieć znaczenie w patogenezie depresji, stanów maniakalnych oraz zaburzeń świadomości [23].

7.4.5.2. *Propionyno-CoA i bursztynyno-CoA*

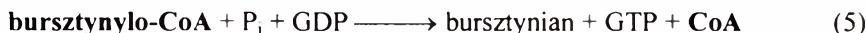
Propionyno-CoA jest produktem rozkładu izoleucyny, metioniny, waliny, treoniny, β -alaniny oraz uracylu, tyminy, cytozyny, a także reszty propylowej cholesterolu i kwasów tłuszczowych o nieparzystej liczbie atomów węgla. Przed wejściem w końcowy etap przemian cząsteczka propionyno-CoA ulega karboksylacji do D-metylomalonyno-CoA. Reakcja ta katalizowana przez biotynozależną karboksylazę zachodzi w obecności wodorowęglanu i ATP. Następnie izomer D-metylomalonyno-CoA ulega racemizacji do izomeru L, a ten z kolei przy udziale odpowiedniej mutazy, której koenzymem jest witamina B₁₂, przekształca się w bursztynyno-CoA – intermediat cyklu Krebsa.



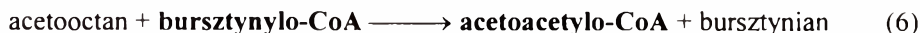
Bursztynyno-CoA może także powstawać z α -ketoglutaranu w reakcji katalizowanej przez wieloenzymatyczny kompleks dehydrogenazy α -ketoglutaranowej (rozdział 6).



W wątrobie głównym torem przemian bursztynyno-CoA jest zachodząca w cyklu Krebsa reakcja fosforylacji substratowej (reakcja 5). Wartość standardowej biologicznej entalpii swobodnej hydrolizy bursztynyno-CoA wynosi $-31,4$ kJ/mol. Rozpad wiązania tioestrowego w reakcji katalizowanej przez syntetazę bursztynyno-CoA jest sprzężony z fosforylacją guanozyno-5'-difosforanu (GDP). Jest to jedyna reakcja cyklu Krebsa, w której bezpośrednio powstaje wysokoenergetyczne wiązanie fosforanowe (GTP).



W tkankach pozawątrobowych bursztynyno-CoA może ulegać przemianie do bursztynianu (reakcja 6). Reakcję katalizuje transferaza przenosząca koenzym A z bursztynyno-CoA na acetoocetan (udział koenzymu A w syntezie i biodegradacji ciał ketonowych omówiono dokładnie w poprzednich podrozdziałach).



Wszystkie wymienione tu (1–6) przemiany zachodzą w mitochondriach, natomiast ani koenzym A, ani jego tioestry nie przechodzą przez błony mitochondrialne. Fakt ten ma istotne znaczenie w patomechanizmie zaburzeń związanych z upośledzeniem aktywności enzymów uczestniczących w tych procesach. Dla wszystkich omówionych tu

reakcji (z wyjątkiem reakcji 5) opisano przypadki występowania niedoboru aktywności enzymu, co prowadzi głównie do kwasicy metabolicznej i hipoglikemii.

W przypadku metylomalonyloacydurii wysokie stężenie metylomalonylo-CoA wewnątrz mitochondriów prowadzi do zubożenia wewnątrzmitochondrialnej puli wolnego koenzymu A, a tym samym do zahamowania reakcji zależnych od jego obecności. Są to głównie reakcje dekarboksylacji oksydatywnej α -ketokwasów: pirogronianu i α -ketoglutaranu.

Kliniczne objawy podobne do tych, które obserwuje się u pacjentów z genetycznie uwarunkowanym upośledzeniem aktywności określonych enzymów można wywołać u zwierząt stosowaniem diety pozbawionej witamin, będących prekursorami koenzymów. Na zwierzęcym modelu niedoboru witaminy B₁₂, wywołanym podawaniem hydroksykobalaminy lub odpowiednią dietą, zaobserwowano nawet 300-krotny wzrost stężenia metylomalonylo-CoA w surowicy badanych szczurów. Natomiast w komórkach wątroby badanych zwierząt całkowita pula koenzymu A (CoA-SH+CoA-S-COR) okazała się czterokrotnie większa w porównaniu ze szczurami bez niedoboru witaminy B₁₂. Autorzy wykazali również, iż propionylo-CoA zwiększa szybkość syntezy koenzymu A z kwasu pantotenowego [24]. Propionylo-CoA, jako analog strukturalny acetylo-CoA, może także wchodzić w proces syntezy kwasów tłuszczowych. W badaniach *in vitro* zaobserwowano, iż szybkość syntezy kwasów tłuszczowych z propionylo-CoA jest równa około 90% szybkości syntezy z acetylo-CoA, co w przypadku nadmiaru propionylo-CoA prowadzi do powstawania kwasów tłuszczowych o nieparzystej liczbie atomów węgla [wg 25]. Do upośledzenia syntezy kwasów tłuszczowych prowadzi też wysoki poziom metylomalonylo-koenzymu A, wywołany niedoborem witaminy B₁₂. Udział cząsteczki metylomalonylo-CoA, będącej analogiem strukturalnym malonylo-CoA w procesie biosyntezy kwasów tłuszczowych prowadzi do powstawania toksycznych, rozgałęzionych kwasów tłuszczowych, które wbudowywane w fosfolipidy i glikolipidy tkanki nerwowej upośledzają jej metabolizm [26].

W warunkach fizjologicznych dekarboksylacja oksydacyjna α -ketoglutaranu oraz przemiany izoleucyny, metioniny, waliny, treoniny, β -alaniny oraz uracylu, tyminy, cytozyny, a także reszty propylowej cholesterolu i kwasów tłuszczowych o nieparzystej liczbie atomów węgla dostarczają łącznie około 600 mmoli bursztynylo-CoA w ciągu doby, z czego około 8 mmoli organizm zużywa do syntezy hemu, będącego grupą prostetyczną hemoprotein.



Aktywność hemoprotein wpływa na przebieg wielu istotnych procesów metabolicznych: wiązanie i transport tlenu (hemoglobina, mioglobina), utlenianie biologiczne (cytochromy łańcucha oddechowego), „zmiatanie” reaktywnych form tlenu (katalazy i peroksydazy), biosynteza aminokwasów siarkowych, degradacja tryptofanu (pirolaza tryptofanowa), desaturacja i elongacja kwasów tłuszczowych (cytochromy b₅ i P₄₅₀). Cytochromy P₄₅₀ – co zostało omówione w poprzednich rozdziałach – biorą również udział w metabolizmie ksenobiotyków (leki, trucizny, środki ochrony roślin, zanieczyszczenia przemysłowe, używki etc.) oraz w syntezie i biotransformacji związków fizjologicznych (hormony steroidowe, kwasy żółciowe, pochodne witaminy D₃).

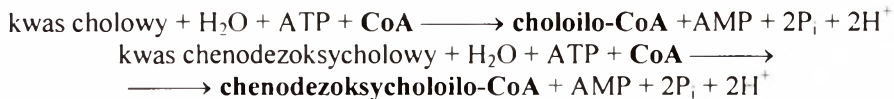
Ponadto hem jest istotnym elementem kontroli ekspresji genów, co ma znaczenie w regulacji syntezy wielu białek (nie tylko hemoprotein).

7.4.5.3. 3-Hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA

Synteza grupy związków określanych wspólną nazwą izoprenoidów rozpoczyna się w cytoplazmie działaniem reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA. Do izoprenoidów należą związki o różnych funkcjach i właściwościach biologicznych: steroidy, poliprenole, dolichole, ubichinony i witaminy.

Cholesterol i jego estry są elementem strukturalnym błon biologicznych, decydującym o ich płynności i przepuszczalności. Są również składnikiem lipoprotein. Głównym miejscem syntezy cholesterolu u ssaków jest wątroba i jelita. Szybkość syntezy cholesterolu (i pozostałych izoprenoidów) jest zależna od aktywności reduktazy HMG-CoA. Ostatnio wiele prac, zwłaszcza klinicznych, poświęcono związkom efektywnie hamującym syntezę cholesterolu. W tej grupie leków największym zainteresowaniem lekarzy cieszą się – odkryte ponad 20 lat temu, statyny (np. lowastatyna, prawastatyna, simvastatyna) – silne, kompetycyjne inhibitory reduktazy HMG-CoA [27]. Statyny są obecnie najczęściej przepisywanymi lekami u osób z hipercholesterolemią ze względu na udowodnioną skuteczność obniżania poziomu cholesterolu frakcji LDL i podwyższania poziomu cholesterolu frakcji HDL [28].

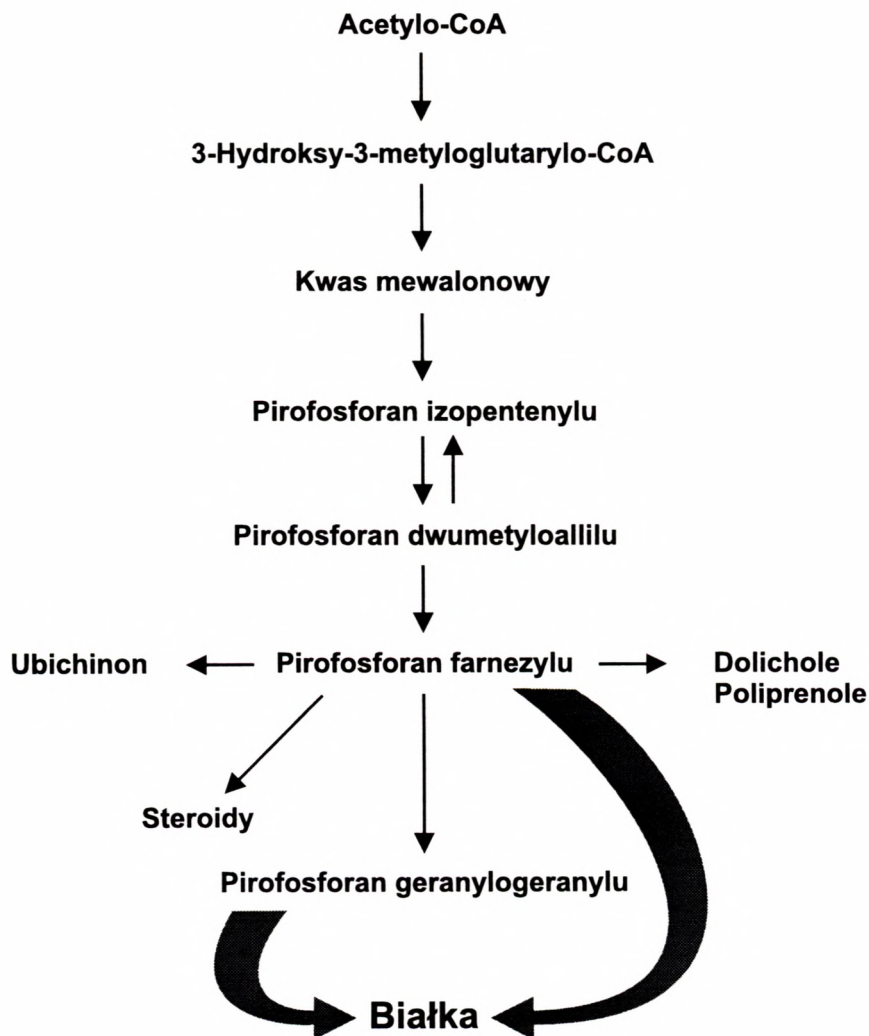
Produktami metabolizmu cholesterolu są hormony steroidowe gruczołów wydzielania wewnętrznego, neurosteroidy syntetyzowane w mózgowiu [29, 30], witamina D i jej pochodne, a także kwasy żółciowe: cholowy i chenodezoksycholowy. Te ostatnie ulegają reakcji tioestryfikacji z koenzymem A, co prowadzi do powstania choloilo-CoA i chenodezoksycholoilo-CoA:



Zaktywowane w ten sposób kwasy żółciowe mogą ulegać reakcji sprzęgania z glicyną i tauryną. Powstałe sole kwasów żółciowych: tauro- i glikocholan oraz tauro- i glikochenodezoksycholan są polarnymi pochodnymi cholesterolu, mającymi zdolność emulgacji tłuszczów w przewodzie pokarmowym. W przemianach cholesterolu w hormony steroidowe i sole kwasów żółciowych istotną rolę odgrywają reakcje hydrolizacji katalizowane przez monooksygenazy cytochromu P₄₅₀, z wykorzystaniem NADPH i tlenu cząsteczkowego (podrozdział 7.4.4).

Wśród cząsteczek uczestniczących w szlaku syntezy izoprenoidów na uwagę zasługuje również difosforan izopentenylu, fosforan farnezyli (C₁₅) i pirofosforan geranylogeranyli (C₂₀) (ryc. 5). Udowodniono bowiem, iż proces izopentenylacji tRNA, zawierającego urydynę jako pierwszą zasadę antykodonu, stabilizuje oddziaływania kodon–antykodon, zmniejszając prawdopodobieństwo błędnego odczytu mRNA [31]. Fosforan farnezyli i pirofosforan geranylogeranyli są natomiast wykorzystywane do modyfikacji kowalencyjnej (prenylacji) białek cytozolowych. Rolą prenylacji, podobnie jak mirystrylacji i palmitylacji jest ułatwienie wiązania białek z błonami biologicznymi. Wyniki badań nad fizjologiczną rolą prenylowanych białek mogą mieć znaczenie w diagnostyce i terapii chorób nowotworowych. Wiadomo, iż zmutowana postać białka Ras, pozostająca stale w aktywnym stanie GTP, jest czynnikiem rakotwórczym (stwierdzono występowanie mutacji Ras w około 50% nowotworów okrężnicy i 90% nowotworów trzustki). Wykazanie, iż dla aktywności białek Ras konieczne jest zakotwiczenie w błonie, do czego niezbędna jest farnezylacja, zasugerowało

możliwość użycia inhibitorów transferazy farnezylowej, jako potencjalnych leków przeciwnowotworowych [32]. Warto wspomnieć tutaj o ciekawym przeglądzie dotyczącym prenylacji białek, w którym podano między innymi przykład limonenu (substancja występująca w skórce pomarańczy). Limonen od dawna cieszył się „sławą” związku przeciwrakowego. Na podstawie aktualnie prowadzonych badań wykazano, iż u podstaw antynowotworowego działania limonenu leży jego hamujący wpływ na proces farnezytacji białek Ras [wg 33].



Ryc. 5. Szlak biosyntezy pochodnych kwasu mewalonowego

Wśród związków zawierających łańcuchy węglowodorowe zbudowane z jednostek izoprenoidowych wymienić należy także fosforany dolicholi oraz ubichinon. Dolichole są dawcą rdzeni cukrowcowych dla licznych białek błonowych i sekrecyjnych. Głównym celem glikozylacji jest – wg hipotezy zaproponowanej przez Drickamera – zakodowanie w strukturze jednostek oligosacharydowych informacji o czasie półtrwania glikoprotein w organizmie [34–36].

Ubichinon – integralny składnik łańcucha oddechowego, zaangażowany w procesy utleniania biologicznego i syntezy ATP – jest również znakomitym antyoksydantem, chroniącym komórkę przed działaniem reaktywnych form tlenu (biologiczny standardowy potencjał oksydacyjno-redukcyjny układu ubichinon utleniony/ubichinon zredukowany wynosi $E_0 = 0,1V$).

Pochodnymi izoprenu są także witaminy A, E i K oraz karotenoidy.

7.4.5.4. *Malonylo-CoA*

Prowadzone na przestrzeni ostatnich lat badania wykazują, iż malonylo-CoA, oprócz funkcji substratu dla biosyntezy kwasów tłuszczowych, donora fragmentów dwuwęglowych w procesie elongacji kwasów tłuszczowych oraz inhibitora palmitoilotransferazy karnitynowej I, pełni także rolę cząsteczki regulującej łaknienie. Badania nad ceruleniną udowodniły, iż jedna z jej pochodnych – nazwana C75 – jest silnym inhibitorem syntazy kwasów tłuszczowych. Podanie C75 myszom powodowało znaczne zmniejszenie spożywania pokarmów, a w konsekwencji spadek masy ciała badanych zwierząt. W wątrobie traktowanych C75 zwierząt stwierdzono duże stężenie malonylo-CoA. Sformułowaną wówczas hipotezę – iż to malonylo-CoA jest cząsteczką hamującą ilość spożywanego pokarmu – potwierdzono w badaniach z zastosowaniem inhibitora karboksylazy acetylo-CoA. Po podaniu tego związku, ale przed podaniem C75, nie zaobserwowano zmniejszenia spożywania pokarmów przez badane zwierzęta. W podsumowaniu autorzy stwierdzają, iż karmienie zwierząt (co powoduje wzrost aktywności karboksylazy acetylo-CoA) z jednoczesnym podawaniem inhibitora syntazy kwasów tłuszczowych prowadzi do wzrostu stężenia malonylo-CoA, a w konsekwencji do spadku masy ciała. Problem ten wymaga jednak dalszych badań [37, 38].

7.4.5.5. *Inne acylo-CoA w metabolizmie lipidowych wtórnych przekaźników*

Lipidy błon komórkowych syntetyzowane z udziałem acylo-CoA są prekursorami tzw. lipidowych wtórnych przekaźników (*lipid second messengers*), uczestniczących w procesach transmisji sygnałów. Są to przede wszystkim: diacyloglicerole, kwas arachidonowy i ikozanoidy, 1,4,5-trifosforan inozytolu, ceramidy oraz zasady sfingoinowe i ich pochodne [14, 15, 39]. Każdy z tych przekaźników w sposób odrębny i swoisty wpływa na określone parametry metabolizmu komórki, regulując między innymi: aktywność kinaz białkowych, agregację płytek krwi, funkcje obronne leukocytów, uwalnianie neurotransmitterów, funkcje kanałów jonowych, stężenie jonów wapnia, ekspresję genów itp.

7.4.6. Koenzym A i/lub jego pochodne disiarczkowe jako cząsteczki regulacyjne

Na przestrzeni ostatnich 10 lat pojawiło się wiele prac wskazujących, iż rola koenzymu A w metabolizmie nie ogranicza się jedynie do transferu grup acylowych w procesach syntezy i degradacji istotnych dla metabolizmu komórki związków chemicznych. Koenzym A i/lub jego pochodne disiarczkowe ujawniają aktywność modulatorów, regulujących wiele fizjologicznych procesów o podstawowym znaczeniu dla homeostazy organizmu. Przyjrzyjmy się niektórym z nich.

Zachodzący głównie w mitochondriach proces retinoilacji, czyli łączenia białek z kwasem retinowym (postać całkowicie *trans*) jest zależny od obecności ATP i koenzymu A. Wyniki przeprowadzonych *in vitro* badań wykazały, iż szybkość tego procesu mierzona ilością łączącego się z białkami kwasu retinowego (postać całkowicie *trans*) w nieobecności ATP lub w nieobecności koenzymu A, a także w nieobecności obu tych związków wynosi odpowiednio 37%, 16% i 11% wartości uzyskanych w kontroli [40].

W regulacji objętości wyrzutowej serca oraz oporu obwodowych naczyń krwionośnych istotną rolę odgrywa autonomiczny układ nerwowy i objętość krążącego osocza. Objętość krążącego osocza jest uzależniona od czynności nerek w zakresie regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej, na którą mają wpływ czynniki nerwowe i humoralne. Pierwsze miejsce wśród nich zajmuje układ renina–angiotensyna–aldosteron (RAA). Giet i współpracownicy wykazali, iż mieszaną disiarczek koenzymu A i glutationu (CoASSG) jest czynnikiem wzmacniającym presyjne działanie angiotensyny II. Poziom angiotensyny II, koniecznej do wywołania efektu wazopresyjnego w izolowanej nerce szczurzej poddanej 60-minutowej perfuzji roztworem zawierającym CoASSG o stężeniu 1 mikromol/l, okazał się trzykrotnie niższy w porównaniu z kontrolą [41].

Mieszany disiarczek koenzymu A i glutationu (CoASSG) w badaniach *in vitro* okazał się również czynnikiem regulującym wzrost i rozwój komórek błony mięśniowej gładkiej naczyń krwionośnych. Obecny w hodowli disiarczek (CoASSG) w stężeniu 10 mikromol/l w sposób istotny zwiększa szybkość proliferacji komórek w porównaniu z kontrolą [42].

Wyniki wstępnie prowadzonych badań sugerują możliwość S-nitrozylacji grupy tiolowej koenzymu A z udziałem S-nitrozoglutationu. Tym samym sugeruje się ewentualny, bezpośredni udział koenzymu A w procesach transdukcji sygnału [43].

7.5. Farmakologiczne właściwości koenzymu A i jego pochodnych

Wyniki aktualnie prowadzonych badań wskazują na możliwość farmakologicznego zastosowania koenzymu A i/lub jego prekursorów w terapii wielu zaburzeń metabolicznych. Wśród szeroko badanych w tym kierunku znajduje się disiarczek pantoteny – pantotina (ryc. 4). Dlaczego pantotina? Szybkość procesu syntezy fosfopantoteny, składnika koenzymu A i białka ACP, jest uzależniona od dostępności endogennej cysteiny. Stąd pantotina, już zawierająca tioetanolaminę (cysteaminę), jest znacznie lepszym od kwasu pantotenowego substratem do syntezy fosfopantoteny i może wywie-

rać korzystny wpływ farmakologiczny w stanach, w których kwas pantotenowy jest nieskuteczny.

Badania na zwierzęcym modelu zaćmy wykazały, iż systematyczne podawanie pantotiny w sposób istotny hamuje proces kataraktogenezy. [44]. Nomura i współpracownicy stwierdzili skuteczność stosowania pantotiny u pacjentów z umiarkowanym podwyższeniem stężenia cholesterolu we krwi (250–320 mg/dl) [45]. Również Binaghi i współpracownicy wykazali korzystny wpływ pantotiny na poziom cholesterolu w osoczu krwi kobiet w okresie menopauzy [46]. Podawanie pantotiny okazało się skuteczne również w leczeniu zaburzeń lipidowych w przebiegu cukrzycy. U pacjentów z cukrzycą, którym przez 6 miesięcy podawano pantotinę w dawce 600 mg/dzień, stwierdzono obniżenie stężenia triglicerydów w osoczu krwi o ponad 20% [47]. Badania prowadzone przez Osono i współpracowników sugerują, iż pantotina wpływa na rozmieszczenie tłuszczu w organizmie. Podawanie pantotiny pacjentom ze stłuszczeniem wątroby i hipertrigliceridemią przez co najmniej 6 miesięcy w dawce 600 mg/dzień prowadziło do obniżenia poziomu tłuszczów w wątrobie i otrzewnej z równoczesnym jego zwiększeniem w tkance podskórnej. Na tej podstawie autorzy sugerują, iż pantotina może pełnić funkcję przenośnika lipidów między otrzewną, wątrobą i tkanką podskórną. [48]. W doświadczalnym modelu stresu oksydacyjnego wywołanego głęboką hipotermią w komórkach mięśnia sercowego pantotina znamienne obniża poziom peroksydacji lipidów i powoduje wzrost aktywności dysmutazy ponad-tlenkowej [49]. Ze wstępnych wyników badań prezentowanych na stronie sieciowej (www.coenzyme-a.com) jednej z amerykańskich firm farmaceutycznych wynika, iż pantotina wpływa także na czynność kory nadnerczy, zwiększając poziom wytwarzania glikokortykoidów.

Badania farmakologów dotyczą również utlenionej formy koenzymu A, czyli disiarczku CoASSCoA. Na zwierzęcym modelu hipoksji wywołanej dożylnym podawaniem azotanu sodu (400 mg/kg wagi ciała) oraz nitroprusydku sodu (20 mg/kg wagi ciała) udowodniono, że disiarczek CoASSCoA znamienne zwiększa, w porównaniu z kontrolą, długość życia badanych zwierząt [50]. W badaniach na zwierzętach wykazano skuteczność osłaniającego działania disiarczkowej formy koenzymu A w ostrym toksycznym zapaleniu wątroby, marskości wątroby oraz stanach niedoboru białkowego. W badaniach tych wykazano również, że podawanie zwierzętom disiarczku CoASSCoA prowadzi do zmniejszenia agregacji płytek krwi [50]. Na skuteczność leczenia preparatami zawierającymi disiarczek koenzymu A zwracają również uwagę autorzy w przeglądzie dotyczącym farmakoterapii zaburzeń metabolizmu lipidów [51]. Podawanie disiarczku CoASSCoA zwierzętom będącym na diecie wysokotłuszczowej prowadzi do obniżenia poziomu triglicerydów w wątrobie oraz w osoczu krwi. Ponadto wyizolowane peroksysomy i mitochondria komórek wątroby badanych zwierząt wykazują wzrost szybkości utleniania palmitynianu. Autorzy sugerują, że disiarczek koenzymu A zmniejsza poziom endogennej syntezy triglicerydów i cholesterolu, natomiast wzrost szybkości utleniania kwasów tłuszczowych jest prawdopodobnie odpowiedzią na zwiększenie katabolizmu lipoprotein VLDL.

Jest prawdopodobne, iż wpływ koenzymu A i/lub jego pochodnych i prekursorów na metabolizm tłuszczu wynika nie tylko z jego funkcji w transporcie grup acylowych. Badania nad zmodyfikowanymi chemicznie cząsteczkami lipoprotein prowadzone w latach siedemdziesiątych ubiegłego wieku doprowadziły do odkrycia tzw. receptorów zmiatających LDL (*scavenger receptors*), które pośredniczą w usuwaniu zmienio-

nych i być może toksycznych lipoprotein z krwiobiegu [52]. Sugeruje się możliwość ochronnego działania *scavenger* receptora dla błon komórkowych. Obecnie wiadomo, że receptory zmiatające charakteryzują się różną specyficznością oraz że istnieje ich odmiana charakteryzująca się wysokim powinowactwem do zmodyfikowanych przez acetylację (z udziałem acetylo-CoA) lipoprotein niskiej gęstości LDL [53].

7.6. Podsumowanie

W powyższym przeglądzie opisano udział koenzymu A w przemianach metabolicznych. W świetle przytoczonych danych staje się oczywiste, iż związek ten pełni unikalną rolę ogniwa łączącego wszystkie bez mała szlaki metaboliczne komórki. Współczesne wyniki badań zdają się potwierdzać hipotezę, iż istnieje ścisły związek pomiędzy poziomem koenzymu A a szeroko pojętym problemem regulacji metabolizmu komórki, jak również wskazują na możliwość farmakologicznego zastosowania koenzymu A i/lub jego prekursorów, głównie w terapii zaburzeń lipidowych. Należy przypuszczać, biorąc pod uwagę już poznaną, imponującą rolę koenzymu A w przemianach biochemicznych, że w chwili obecnej odkryto zaledwie „wierzchołek góry lodowej”, jego tak regulacyjnych, jak i farmakologicznych możliwości.

Literatura

- [1] Robishaw J.D., Neely J.R. (1985), *Coenzyme A Metabolism*. Am. J. Phys., 248, E1–E9.
- [2] Tu S.-I., Byler D.M., Cavanaugh J.R. (1984), *Nitrite inhibition of acyl transfer by coenzyme A via the formation of an S-nitrosothiol derivative*. J. Agric. Food Chem., 31, 1057–1060.
- [3] Wong Y.L., Smith C.V., McMicken H.W., Rogers L.K., Welty S.E. (2001), *Mitochondrial thiol status in the liver is altered by exposure to hyperoxia*. Toxicol. Lett., 123 (2–3), 179–193.
- [4] Budzyński A.Z. (1958), *Metabolizm tłuszczów*. Post. Bioch., IV (3), 379–402.
- [5] Heller J. (1953), *O związkach fosforowych wysokiej energii*. Post. Bioch., zeszyt I (rok I), 5–33.
- [6] Sulek K. (1968), *Nagroda dla Hansa Adolfa Krebsa za odkrycie cyklu kwasu cytrynowego; nagroda dla Fritza Alberta Lipmanna za odkrycie koenzymu A i jego znaczenia w pośredniej przemianie materii*. Wiad. Lek., 21 (23), 2187–2189.
- [7] Shampo M.A., Kyle R. (2000), *A Fritz Lipmann – Nobel Prize in Discovery of Coenzyme A*. Mayo Clinic Proceedings, 75 (1), 30–31.
- [8] Vagelos P.R. (1973), *Acyl group transfer (acyl carrier protein)*. W: Boyer P.D. (ed.). *The Enzymes*. (3rd ed.), vol. 8, 155–199, Academic Press.
- [9] Moiseenok A.G., Sheibak V.M., Gurinovich V.A. (1987), *Hepatic CoA, S-acyl-CoA, biosynthetic precursor of the coenzyme and pantothenate-protein complexes in dietary pantothenic acid deficiency*. International Journal for Vitamin and Nutrition Research, 57 (1), 71–77.
- [10] Tahillani A.G., Neely J.R. (1987), *Mitochondrial synthesis of coenzyme A is on the external surface*. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 19 (12), 1161–1167.
- [11] Shimizu S., Komaki R., Tani Y., Yamada H. (1983), *A high yield method for the preparative synthesis of coenzyme A by combination of chemical and enzymatic reactions*. FEBS Letters, 15 (2), 303–306.
- [12] Zammit V.A. (1999), *The malonyl-CoA-long-chain acyl-CoA axis in the maintenance of mammalian cell function*. Biochem. J., 343, 505–515.

- [13] Vavvas D., Apazidis A., Saha A.K., Gamble J., Patel A., Kemp B.E., Witters L.A., Ruderman N.B. (1997), *Contraction-induced changes in acetyl-CoA carboxylase and 5'-AMP-activated kinase in skeletal muscle*. J. Biol. Chem., 272 (20), 13255–13261.
- [14] Żylińska L., Lachowicz L. (1996), *Kwas arachidonowy w fizjologii i patologii tkanki nerwowej*. Post. Biochem., 42 (4), 357–363.
- [15] Lachowicz L., Żylińska L. (1996), *Eikozanoidy –mózgowe przekazniki sygnałów*. Post. Biochem., 42 (4), 363–368.
- [16] Johnson D.R., Bhatnager R.S., Knoll L.J., Gordon J.I. (1994), *Genetic and biochemical studies of protein N-myristoylation*. Ann. Rev. Biochem., 63, 869–914.
- [17] Brass E.P. (1994), *Overview of coenzyme A metabolism and its role in cellular toxicity*. Chemico-Biological Interactions, 90 (3), 203–214.
- [18] Pelkonen O., Nebert D.W. (1982), *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: etiologic role in carcinogenesis*. Pharm. Rev., 34 (2), 189–222.
- [19] Isenberg I. (1979), *Histones*. Ann. Rev. Biochem., 48, 159–191.
- [20] Kornberg R.D., Klug A. (1980), *The nucleosome*. Sci. Amer., 244, 52–64.
- [21] Clements A., Rojas J.R., Trievel R.C., Wang L., Berger S.L., Marmorstein R. (1999), *Crystal structure of the histone acetyltransferase domain of the human PCAF transcriptional regulator bound to coenzyme A*. EMBO Journal, 18 (13), 3521–3532.
- [22] Barcikowska M., Desparat M. (1999), *Hipotetyczny udział układu cholinergicznego w amyloidogenezie. Szkoła wiosenna Polskiego Towarzystwa Badań Układu Nerwowego „Acetylocholina i funkcje poznawcze”*. Neurologia i Neurochirurgia Polska, 33 (49), Supl. 2, 65–72.
- [23] Puzyński S. (1999), *Acetylocholina i zaburzenia psychiczne. Szkoła wiosenna Polskiego Towarzystwa Badań Układu Nerwowego „Acetylocholina i funkcje poznawcze”*. Neurologia i Neurochirurgia Polska, 33 (49), Supl. 2, 47–58.
- [24] Brass E.P., Tahiliani A.G., Allen R.H., Stabler S.P. (1990), *Coenzyme A metabolism in vitamin B-12 deficient rats*. Journal of Nutrition, 120 (3), 290–297.
- [25] Włodek L. (1982), *Biochemiczny mechanizm działania witaminy B₁₂*. Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Jagiellońskiego. Prace z Biologii Molekularnej, 9, 169–180.
- [26] Barley F.W., Sato G.H., Abeles R.H. (1972), *An effect of vitamin B 12 deficiency in tissue culture*. J. Biol. Chem., 247 (13), 4270–4276.
- [27] Endo A., Tsujita Y., Kuroda M., Tanzawa K. (1977), *Inhibition of cholesterol synthesis in vitro and in vivo by ML-236A and ML-236B, competitive inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase*. Eur. J. Biochem., 77, 31–66.
- [28] Maron D.J., Fazio S., Linton M.F. (2000), *Current perspectives on statins*. Circulation, 101 (2), 207–213.
- [29] Baulieu E.E., Robel P. (1990), *Neurosteroids: a new brain function?* J. Steroid Biochem. Molec. Biol., 37 (3), 395–403.
- [30] Rębas E., Lachowicz L. (1995), *Neurosteroidy – synteza i metabolizm*. Post. Biochem., 41 (1), 47–50.
- [31] Szkopińska A. (1993), *Wykorzystanie mutantów drożdży do badania wspólnego szlaku biosyntezy dolicholi, steroli i ubichinonów*. Post. Biochem., 39 (3), 185–191.
- [32] Kohl N.E., Mosser S.D., de Solms S.J., Giuliani E.A., Pompliano D.L., Graham S.L., Smith R.L., Scolnik E.M., Oliff A., Gibbs J.B. (1993), *Selective inhibition of ras-dependent transformation by a farnesyltransferase inhibitor*. Science, 260 (5116), 1934–1937.
- [33] Świeżawska E. (1995), *Prenylacja białek*. Post. Bioch., 41(1), 51–58.
- [34] Żak I. (1990), *Glikoproteiny ssaków*. PWN, Warszawa.
- [35] Żak I., Dróżdż M. (1994), *Struktura, biosynteza i funkcja oligosacharydów glikohormonów*. Post. Biochem., 40 (2), 113–120.
- [36] Drickamer K. (1991), *Clearing up glycoprotein hormones*. Cell, 67 (6), 1029–1032.

- [37] Loftus T.M., Jaworsky D.E., Frehywot G.L., Townsend C.A., Ronnett G.V., Lane M.D., Kuhajda F.P. (2000), *Reduced food intake and body weight in mice treated with fatty acid synthase inhibitors*. Science, 288 (5475), 2379–2781.
- [38] Nogalska A., Świerczyński J. (2001), *Malonylo-koenzym A jako cząsteczka sygnałowa czynna w regulacji laktacji*. Post. Biochem., 47 (2), 160–168.
- [39] Kwiatkowska J. (1994), *Sfingomielinowy szlak transmisji sygnałów*. Post. Biochem., 40 (3), 130–142.
- [40] Genchi G., Olson J.A. (2001), *Retinoylation of proteins in cell-free fractions of rat tissues in vitro*. Biochim. Biophys. Acta, 1530 (2–3), 146–154.
- [41] Van der Giet M., Schmid A., Jankowski J., Schluter H., Zidek W., Tepel M. (2001), *Coenzyme A glutathione disulfide is a potent modulator of angiotensin II-induced vasoconstriction*. American Journal of Hypertension, 14 (2), 164–168.
- [42] Jankowski J., Schroter A., Tepel M., van der Giet M., Stephan N., Luo J., Zidek W., Schmid A., Schluter H. (2000), *Isolation and characterization of coenzyme A glutathione disulfide as a parathyroid-derived vasoconstrictive factor*. Circulation, 102 (20), 2548–2552.
- [43] Roediger W.E.W. (2001), *Nitric Oxide-Dependent Nitrosation of Cellular CoA A Proposal for Tissue Responses*. Nitric Oxide. Biology and Chemistry, 5 (2), 83–87.
- [44] Clark J.I., Livesey J.C., Steele J.E. (1996), *Deley or inhibition of rat lens opacification using pantethine and WR-77913*. Experimental Eye Research, 62 (1), 75–84.
- [45] Nomura H., Kimura I., Okamoto O., Shiraishi G. (1996), *Effects of antihyperlipidemic drugs and diet plus exercise therapy in the treatment of patients with moderate hypercholesterolemia*. Clinical Therapeutics, 18 (3), 477–482.
- [46] Binaghi P., Cellina G., Lo Cicero G. (1990), *Evaluation of the cholesterol-lowering effectiveness of pantethine in women in perimenopausal age*. Minerva Medica, 81, 475–479.
- [47] Tonutti L., Taboga C., Noacco C. (1991), *Comparison of the efficacy of pantethine, acipimox, and bezafibrate on plasma lipids and index of cardiovascular risk in diabetics with dyslipidemia*. Minerva Medica, 82 (10), 657–663.
- [48] Osono Y., Hirose N., Nakajima K., Hata Y. (2000), *The effects of pantethine on fatty liver and fat distyrbution*. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis, 1, 55–58.
- [49] Sheksters A.P., Utno L.I., Girgensone M.I. (1991), *Regulation of superoxide dismutase activity during deep hypothermia by simultaneous administration of water and lipid soluble antioxidants*. Biulleten Eksperimentalnoi Biologii i Meditsyny, 111 (6), 593–595.
- [50] Avakumov V.M., Krylov I.F., Karaew A.L., Muliar A.G., Smirnova T.N., Kovler M.A., Filina E.A. (1993), *Farmakologicheskie swoistwa kofermenta A-disulfida*. Eksperimentalnaia i Klinicheskaia Farmakologiya, 56 (1), 42–44.
- [51] Perin A., Fraticelli G. (1991), *Coenzyme A and hyperlipoproteinemias*. International Journal of Tissue Reaction, 13 (2), 111–114.
- [52] Brown M.S., Goldstein J.L. (1990), *Atherosclerosis. Scavenging for receptors*. Nature, 343 (6258), 508–509.
- [53] Arai H., Kita T., Yokode M., Narumiya S., Kawai C. (1989), *Multiple receptors for modified low density lipoproteins in mouse peritoneal macrophages: different uptake mechanisms for acetylated and oxidized low density lipoproteins*. Biochem. Biophys. Res. Comm., 159, 1375–1382.